

# Efisiensi Sterilisasi Alat Bedah Mulut melalui Inovasi Oven dengan Ozon dan *Infrared*

*Florence Meliawaty*

*Program Studi Kedokteran Gigi, Universitas Kristen Maranatha  
Jl. Prof. drg. Suria Sumantri MPH No. 65 Bandung 40164 Indonesia*

## **Abstrak**

Odontektomi gigi molar rahang bawah yang tumbuh tidak normal merupakan operasi yang paling sering dilakukan pada bagian bedah mulut. Tujuan sterilisasi adalah membunuh semua bentuk mikroorganisme hidup termasuk sporanya pada alat-alat yang disterilkan. Tujuan penelitian ini untuk menilai efisiensi proses sterilisasi dengan pemanasan kering, oven dengan ozon dan *infrared* sebagai pengendalian infeksi. Penelitian eksperimen laboratoris ini dilakukan di bagian Bedah Mulut dan Maksilofasial Rumah Sakit Hasan Sadikin Bandung dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran Jatinangor. Sterilisasi dilakukan dengan tiga metode, pemanasan kering dengan oven+ozon, pemanasan kering dengan oven+infra merah pada suhu 125°C selama 15 menit, keduanya dipantau dengan *Bacillus atrophaeus* sebagai indikator biologis, dan autoklafisasi pada 121°C selama 15 menit dengan *Geobacillus stearothermophilus* sebagai pemantauan biologis, dengan 17 kali pengulangan. Setelah sterilisasi, semua indikator ditanam pada lempeng agar, dan dinilai pertumbuhannya. Jumlah koloni dihitung menggunakan alat penghitung koloni bakteri elektrik Stuart. Setiap proses sterilisasi disertai kontrol positif dan negatif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa setelah autoklafisasi semua spora mati, sebaliknya sterilisasi dengan oven, masih menghasilkan pertumbuhan koloni pada lempeng agar, tetapi setelah 3 kali pengulangan oven+infra merah tidak terdapat pertumbuhan koloni. Pemanasan dengan oven+ozon hanya mengurangi jumlah spora, bahkan sampai 5 kali pengulangan. Pengurangan jumlah koloni berbanding terbalik dengan peningkatan pengulangan. Berdasarkan analisis statistik ternyata perbedaannya sangat bermakna. Simpulan penelitian ini bahwa sterilisasi dengan oven+infra merah akan dicapai setelah 3 kali pengulangan (30-35 menit) dan sterilisasi dengan oven+ozon hanya membunuh bakteri dalam bentuk vegetatif.

**Kata kunci:** sterilisasi, *Bacillus atrophaeus*, *Geobacillus stearothermophilus*, pemanasan kering, autoklafisasi

## ***Sterilization Efficacy of Oral Surgery Instruments through Innovation of Oven with Ozone and Infrared***

### **Abstract**

Odontectomy of the abnormal growth of lower molars is the most often performed in oral surgery. Sterilization is carried out to completely kill all forms of microbial life including bacterial spores on the items being processed. Biologic monitoring provides the main guarantee of sterilization. The aim of this study was to find the efficiency of the sterilization process by a more practical and economical dry heat method, oven plus ozone and infrared as an infection control. This experimental laboratory study was conducted at the Oral Maxillofacial Surgery Department in the Hasan Sadikin General Hospital Bandung and at the Microbiology Laboratory Faculty of Dentistry, Padjadjaran University, Jatinangor. The protocol was performed in three methods of sterilization: dry heat with oven+ozone, dry heat with oven+infrared (125°C-15 minutes), both were monitored by *Bacillus atrophaeus* as the biologic indicators, and autoclavization (121°C-15 minutes) with *Geobacillus stearothermophilus* as the biological monitoring, with 17 times repetition. After sterilization, all of the indicators were cultured on Nutrient agar plates (NAPs), and the subsequent growth was assessed. The colony forming units (CFUs) were counted by Stuart electric bacteria colony counter. Adequate positive and negative controls were used in every cycle. The results showed that after autoclavization all spores were killed. In comparison, dry heating in oven still left CFUs on the NAPs, but no colonies grew after 3 repetitions by oven+infrared. Heating in oven+ozone only reduced the spore numbers, even after repeating 5 times. The reduction of the CFUs was greater after more repetition. According to the statistical analysis, the differences were significant. This study concluded that sterilization by oven+infrared would be achieved after 3 holding times (30-35 minutes) and dry heat with oven+ozone could only act as germicide.

**Keywords:** sterilization, *Bacillus atrophaeus*, *Geobacillus stearothermophilus*, dry heat, autoclavization

### **Pendahuluan**

Molar tiga rahang bawah sering tumbuh tidak normal sehingga memerlukan pengangkatan dan merupakan prosedur bedah mulut yang paling sering dilakukan di tempat praktek. Keberhasilan suatu operasi harus dicapai dengan prosedur dan teknik operasi yang baik, keterampilan operator yang memadai, serta teknik asepsis sebagai pencegahan infeksi pasca operasi.<sup>1</sup> Dalam tindakan bedah mulut, alat yang dipakai akan berkontak dengan jaringan/mukosa yang terbuka,

sehingga harus digunakan alat dan bahan yang steril.<sup>1</sup>

Proses sterilisasi alat bedah umumnya dilakukan berdasarkan pemanasan basah yaitu autoklafisasi dan pemanasan kering melalui oven. Pemantauan proses sterilisasi didasarkan dengan tiga cara yaitu secara fisika dengan mengukur temperatur, tekanan, dan waktu;<sup>1</sup> secara kimia dengan *autoclave tape*, *sterilization pouch* yang memperlihatkan perubahan warna bila telah tercapai siklus sterilisasi yang dilakukan; secara biologis dengan

menggunakan *spore strip* atau suspensi biakan spora; untuk cara autoklafisasi digunakan *Geobacillus stearothermophilus*, sedangkan pada sterilisasi dengan oven dipakai *Bacillus atrophaeus*.<sup>1,2,3</sup>

Autoklaf merupakan alat sterilisasi yang mahal harganya. Inovasi oven sudah banyak diterapkan, diantaranya melalui penambahan ozon dan *infrared*, sehingga menjadi alat sterilisasi yang jauh lebih murah. Ruangan dalam oven itu dibagi menjadi 2, bagian atas dilengkapi ozon sedangkan bagian bawah dengan *infrared* (Gambar 1). Pemanasan dalam oven ini hanya dilakukan selama 15 menit dalam temperatur 125°C. Secara teoritis sterilisasi melalui pemanasan dalam oven konvensional, dilaksanakan pada temperatur 160°C selama 2 jam atau pada temperatur 180°C selama 1 jam.<sup>1,2</sup> Perbedaan temperatur dan waktu sterilisasi ini menarik untuk ditelaah lebih lanjut.

Ozon bersifat bakterisid, mikobakterisid, dan sporisid.<sup>4</sup> Sterilisator dengan menggunakan bentuk dasar radiasi *infrared* membunuh spora *Bacillus atrophaeus*. Keuntungan teknologi *infrared* adalah waktu siklus pendek, pemakaian energi rendah, tidak ada residu, dan tidak beracun terhadap lingkungan,<sup>4</sup> hanya jaminan sterilitasnya tidak pernah disertakan, oleh karena tidak dilengkapi termometer, sehingga pemantauan hasil sterilitas secara fisika sulit ditentukan. Pemantauan dengan indikator pun tidak selalu diterapkan selama proses sterilisasi. Sterilitas

masing-masing alat dapat diuji secara mikrobiologis, namun dengan cara ini alat tersebut tidak dapat dipakai lagi untuk perawatan pasien. Berdasarkan hal itu diperlukan suatu indikator yang dapat digunakan sebagai jaminan bahwa sterilisasi alat berhasil dengan baik. Indikator biologis merupakan persyaratan mutlak yang diperlukan untuk membuktikan bahwa pemantauan sterilisasi dengan autoklafisasi ataupun melalui pemanasan dengan oven, keduanya berhasil dengan baik. Dengan latar belakang uraian di atas, diadakan penelitian untuk menguji hasil proses sterilisasi dengan alat tersebut, untuk mendapatkan efisiensi sterilisasi alat bedah mulut melalui inovasi oven dengan ozon dan *infrared*.

Tujuan penelitian ini adalah membandingkan jumlah mikroorganisme indikator biologis antara metode sterilisasi dengan oven+ozon, oven+*infrared* dan autoklafisasi untuk alat serta bahan tindakan odontektomi di klinik Bedah Mulut, mencapai proses sterilisasi alat dan bahan odontektomi berdasarkan analisis indikator biologisnya untuk meminimumkan terjadinya infeksi pasca bedah, meningkatkan upaya pencegahan infeksi silang di klinik Bedah Mulut untuk bekerja secara aman serta aseptis yang relatif praktis dan biaya yang lebih ekonomis dibandingkan dengan oven konvensional yang jauh lebih mahal sehingga terjamin rasa aman bagi pasien dan para klinisi.



**Gambar 1.** Sterilisator untuk Pemanasan Kering<sup>3</sup>

### Bahan dan Cara

Sebagai bahan pemeriksaan digunakan bilasan alat bekas pakai tindakan odontektomi pasien molar tiga rahang bawah di klinik Bedah Mulut dan Maksilofasial Rumah Sakit Hasan Sadikin Bandung. Alat-alat dan bahan yang dipakai dalam klinik terdiri atas kaca mulut, pinset, sonde, *scalpel*, bein, tang cabut, kuret, jarum, benang, *syringe*.

Alat laboratorium yang digunakan dalam penelitian yaitu autoklaf (Melag tipe MELAtronic®23) sebagai sterilisator dengan pemanasan basah dan oven (Corona® ZTP 80A-7) sebagai sterilisator dengan pemanasan kering yang dilengkapi dengan ozon di bagian atas dan *infrared* di bagian bawah. Selain itu juga alat yang lazim digunakan di laboratorium mikrobiologi, termasuk bahan untuk pengecatan Gram dan pengecatan Klein.

Medium pembiakan bakteri terdiri atas lempeng agar darah (LAD), lempeng agar biasa (LAB), dan bulyon. Indikator biologis untuk pemantauan hasil sterilisasi yaitu *Bacillus atrophaeus* (ATCC 9372) untuk pemanasan dengan oven, dan *Geobacillus stearothermo-philus* (Attest™ 3M 1262P, ATCC 7953) untuk proses autoklafisasi.<sup>1,4,5</sup>

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimen murni (*true experimental study*) terhadap sterilisasi yang dilakukan dengan oven+ozon, oven+*infrared* dibandingkan

dengan autoklaf, berdasarkan jumlah kontaminan pada alat-alat bekas pakai tindakan odontektomi molar rahang bawah di klinik Bedah Mulut dan Maksilofasial RSHS Bandung. Hasilnya dinilai melalui pemeriksaan mikrobiologis dengan pengecatan bakteri dan pembiakan spora sebagai indikator biologis.

Besar sampel ditentukan berdasarkan rumus untuk menguji perbedaan dua rata-rata yaitu:

$$n \geq \frac{2 S^2 (Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2}{d^2}$$

Ket. : n = besar sampel minimal

S = standar deviasi gabungan

d = besarnya perbedaan rata-rata jumlah koloni antara kedua jenis sterilisasi

$Z_{\alpha}$  dan  $Z_{\beta}$  diperoleh dari tabel distribusi normal standar, untuk taraf kepercayaan 95 % ( $Z_{\alpha}$  dari tabel sesuai dengan 1,96) dan untuk *power test* 95 % ( $Z_{\beta}$  dari tabel = 1,65). Karena nilai S dan d tidak diketahui, maka ditentukan berdasarkan *pilot study* dengan mengambil ukuran sampel kecil (n=5). Dari hasil *pilot study* diperoleh standar deviasi jumlah koloni pada sterilisasi ke-1 untuk perlakuan oven+ozon adalah 46,462 dan untuk perlakuan oven+*infrared* adalah 26,876; dan standar deviasi gabungan adalah 37,954 serta besarnya perbedaan rata-rata jumlah

koloni ditetapkan secara klinis bermakna adalah 50.

Berdasarkan rumus besar sampel di atas maka diperoleh :

$$n \geq \frac{2 \times 37,954^2 (1,96 + 1,65)^2}{50^2}$$
$$n \geq 15$$

Jadi dalam penelitian ini diperlukan minimal sampel berjumlah 15.

Variabel penelitian yang digunakan adalah:

1. variabel bebas adalah teknik sterilisasi
2. variabel terikat yaitu jumlah bakteri dari alat-alat bekas pakai odontektomi yang tumbuh pada LAD dan digunakan sebagai jumlah awal *Bacillus atrophaeus* dan *Geobacillus stearothermophilus* sebagai indikator biologis
3. variabel yang terkendali yaitu cara dan proses sterilisasi dibuat sama pada setiap perlakuan, alat-alat odontektomi yang sejenis, pembuatan medium pembiakan, cara pengambilan bahan penelitian, dilakukan dengan metode yang sama, cara pengeringan mikroba pada suhu 35°-37°C selama 18-24 jam, kecuali *Geobacillus stearothermophilus* dalam suhu 55°C selama 7 hari
4. variabel pengganggu yang tidak terkendali yakni jumlah orang dan udara selama odontektomi di klinik Bedah Mulut dan Maksilofasial RSHS Bandung.

Sampel diperoleh dari bulyon bilasan 10 macam alat bekas pakai pasien yang mendapat perawatan odontektomi pada molar tiga rahang

bawah di klinik Bedah Mulut RSHS Bandung selama November 2009 hingga Maret 2010. 0,1 ml dari bulyon ditanam pada LAD steril untuk penghitungan jumlah koloni (PJK) bakteri yang terdapat pada bilasan tersebut. Sisanya dimasukkan ke dalam Erlenmeyer untuk disterilkan dalam oven+ozon dan oven+*infrared*, lalu 0,1 ml ditanam pada LAD steril lainnya. Perlakuan ini diterapkan terhadap 17 pasien odontektomi. Pada penelitian pendahuluan ini, semua bulyon yang telah disterilkan tersebut tidak memperlihatkan pertumbuhan koloni bakteri pada tiap biakan LAD, yang berarti bakteri mati setelah sterilisasi. Menurut teori, mikroorganisme yang paling resisten terhadap sterilisasi adalah spora.<sup>6</sup>

Berdasarkan hal tersebut, sterilisasi dilakukan terhadap spora *Geobacillus stearothermophilus* dalam autoklaf dan *Bacillus atrophaeus* dalam oven+ozon dan oven+*infrared* di klinik Bedah Mulut dan Maksilofasial RSHS dengan prinsip bahwa jika spora mati, pasti bakteri mati.

Pemeriksaan bakteriologis berupa PJK bakteri kontaminan dilaksanakan di laboratorium Mikrobiologi FKG Unpad di Jatinangor yang telah diawali dengan penelitian pendahuluan. Karena yang dipakai adalah indikator biologis dan supaya dapat dihitung maka jumlahnya disesuaikan dengan jumlah bakteri kontaminan yang melekat pada alat bekas pakai: kaca mulut, sonde, pinset, *scalpel*, *syringe*, tang cabut, bein, kuret, jarum, benang.

Masing-masing alat bekas pakai dibilas dengan 10 ml bulyon steril dalam petri besar steril. Air bilasan sebagai bahan pemeriksaan (BP) dijadikan suspensi bakteri homogen. BP diambil 0,1 ml dengan semprit sekali pakai lalu ditanam pada LAD secara merata dengan oese berdasarkan metode *streak plate*. Biakan LAD dibawa ke laboratorium Mikrobiologi Jatinangor untuk dieramkan dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 18-24 jam. Keesokan harinya dihitung jumlah koloni yang tumbuh pada LAD. Penghitungan jumlah koloni (PJK<sub>1</sub>) yang tumbuh pada LAD tersebut digunakan sebagai jumlah awal bakteri uji yaitu *Bacillus atrophaeus* yang akan disterilisasi dengan oven+ozon, oven+infrared, dan *Geobacillus stearothermophilus* untuk autoklafisasi.

Indikator biologis *Geobacillus stearothermophilus* mudah diperoleh dalam bentuk *a self-contained vial* (Attest™ 3M 1262P, ATCC 7953), sedangkan untuk *Bacillus atrophaeus* (ATCC 9372) yang tersedia berupa biakan. Berhubung sterilisasi yang akan dilakukan adalah pemanasan kering dalam oven maka untuk uji sterilitasnya digunakan strip spora dalam bentuk yang kering pula. Untuk keperluan ini kertas saring tebal dipotong dengan ukuran 1x1 cm, dan masing-masing potongan kertas saring tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi, disumbat dengan kapas yang dibalut kain kasa, lalu disterilkan dalam oven dengan suhu 160°C selama 2 jam.

*Bacillus atrophaeus* disuspensikan dalam bulyon yang disetarakan dengan kekeruhan Mc Farland 0,5 dan dipipet

0,1 ml, lalu ditanam secara merata pada LAB, dieramkan 37°C selama 18-24 jam. Sebagai kontrol negatif LAB yang tidak ditanami, diinkubasi bersama-sama. Keesokan harinya dilakukan PJK<sub>2</sub>. Setelah itu dibuat lagi suspensi *Bacillus atrophaeus* dengan kekeruhan Mc Farland 0,5 dan diencerkan secara seri supaya setara dengan PJK<sub>1</sub>. Suspensi tersebut dipipet masing-masing 0,5 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 1x1 cm kertas saring tebal yang telah disterilkan supaya terserap semuanya (tabung A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, ..., A<sub>17</sub>) dan dibiarkan sampai strip spora tersebut kering.

Untuk memperoleh gambaran mikroskopis spora yang tercatat setelah perlakuan sterilisasi, dibuat pula suspensi *Bacillus atrophaeus* dengan kekeruhan setara Mc Farland 1, lalu dicampurkan dengan larutan karbol fukhsin sama banyak sehingga menjadi kekeruhan Mc Farland 0,5. Dari suspensi campuran ini dipipet 0,5 ml dan diserapkan pada kertas saring steril dalam tabung reaksi (tabung B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, ..., B<sub>17</sub>).

Indikator biologis (IB) untuk proses autoklafisasi menggunakan strip spora *Geobacillus stearothermophilus* dalam kemasan yang tersedia (Attest™ 3M 1262P, ATCC 7953). Setelah itu proses perlakuan dilaksanakan berdasarkan:

1. metode 1: sterilisasi dengan autoklaf pada temperatur 121°C selama 15 menit terhadap 17 kemasan IB *Geobacillus stearothermophilus* yang tersedia di perdagangan, sebagai pengulangan perlakuan
2. metode 2: sterilisasi dengan pemanasan kering (oven+ozon) suhu

125°C selama 15 menit untuk tabung A dan B yang berisi strip spora *Bacillus atrophaeus*

3. metode 3: sterilisasi dengan pemanasan kering (oven+*infrared*) suhu 125°C selama 15 menit terhadap tabung A dan B yang berisi strip spora *Bacillus atrophaeus*.

Sebagai kontrol positif digunakan 1 tabung A dan B yang tidak disterilkan, sedangkan untuk kontrol negatif dipakai kertas saring steril yang dibasahi bulyon steril dengan perlakuan yang sama.

Setelah selesai sterilisasi, masing-masing tabung A dengan strip spora termasuk kontrol positif dan negatif dimasukkan 5 ml bulyon steril, lalu dikocok pada vortex *mixer* supaya spora yang melekat pada kertas saring terlepas dan tersebar secara merata dalam bulyon tersebut.

Penilaian mikroskopis dilakukan berdasarkan pengecatan Gram dan pengecatan spora menurut Klein. Suspensi *Bacillus atrophaeus* dalam tabung ini dipipet sebanyak 0,1 ml, ditanam pada LAB steril, diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Sebagai kontrol negatif untuk medium pembiakan digunakan LAB dari bulyon yang tidak ditanami dan diinkubasi dengan cara yang sama. Keesokan harinya dilakukan PJK terhadap masing-masing biakan LAB.

Penilaian terhadap tabung B setelah sterilisasi, ditambahkan 1 ml larutan NaCl fisiologis, kemudian dibuat preparat untuk dinilai berdasarkan pengecatan spora menurut Klein, namun pemanasannya dilakukan selama proses sterilisasi dengan oven 125°C selama 15

menit. Perlakuan ini diulang sebanyak 17 kali untuk tabung A dan B berdasarkan sterilisasi dengan metode 1, 2, dan 3.

Setelah autoklafisasi, *vial* IB yang berisi *Geobacillus stearothermophilus* dicampurkan mediumnya dengan menekan *vial*/tutup medium sampai ampul bagian dalam pecah. Setelah itu 0,1 ml isi *vial* tersebut ditanam pada LAB berdasarkan metode penggarisan dan diinkubasi pada temperatur 55°C selama 1 minggu. Sebagai kontrol positif juga ditanamkan *vial* yang tidak diautoklafisasi, sedangkan untuk kontrol negatif digunakan LAB yang tidak ditanami, namun diinkubasi dengan cara yang sama. Setelah inkubasi dilakukan PJK dengan *electric bacteria colony counter* (dokter Stuart).

Karena setelah sterilisasi dengan metode 2 (oven+ozon) dan metode 3 (oven+*infrared*) masih terdapat pertumbuhan bakteri indikator pada biakan LAB, maka proses sterilisasi dengan oven ini dilanjutkan lagi. Setelah selesai proses sterilisasi pertama tombol "on" pada oven tersebut segera menjadi "off". Untuk mengulangi proses sterilisasi, tombol "on" ditekan kembali. Dengan demikian akan terjadi proses sterilisasi 2 kali dan dengan cara yang sama dilanjutkan sampai 3 kali, 4 kali, dan 5 kali, yaitu sampai tercapai keadaan steril berdasarkan pemeriksaan bakteriologis; setelah dalam pengecatan Gram tidak tampak adanya bakteri dan pada biakan LAB tidak terdapat pertumbuhan koloni. PJK dilakukan melalui *electric bacteria colony counter*

(dokter Stuart), dengan cara meletakkan biakan LAB di atas ruang hitung.

Supaya tidak terjadi penghitungan 2 kali, koloni yang terdapat pada garis vertikal dihitung dalam kotak sebelah kiri, sedangkan koloni yang terdapat pada garis horizontal dihitung dalam kotak sebelah atas. Perbedaan PJK pada masing-masing biakan LAB dihitung dan dianalisis secara statistik.

Analisis data dilakukan dengan cara:

1. analisis univariabel yang bertujuan menggambarkan tentang proses sterilisasi alat dan bahan odontektomi berdasarkan analisis setiap indikator biologis

2. untuk menjawab hipotesis 1 dan 2 dapat dilakukan dengan hipotesis statistik sebagai berikut:

$$H_0: B = 0 \quad \text{melawan} \quad H_1: B \neq 0$$

Statistik ujinya digunakan statistik  $t$  data berpasangan dengan rumus

$$t = b / (s_b / \sqrt{n})$$

dengan:  $b$  = rata-rata beda sebelum dan setelah sterilisasi,  $s_b$  = beda simpangan baku (standar deviasi = Std),  $n$  = banyak sampel. Statistik  $t$  dengan rumus di atas berdistribusi  $t$ -student. Kriteria pengujiannya adalah terima  $H_0$  jika  $t$  hitung terletak dalam batas-batas  $t$  tabel sebagai berikut:  $-t_{(n-1), (\alpha)} < t \text{ hitung} < t_{(n-1), (\alpha)}$ .

3. untuk menjawab hipotesis 3 yaitu membandingkan tiga cara sterilisasi dapat diturunkan hipotesis statistik:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$$

$H_1$ : salah satu tanda = tidak berlaku  
Statistik ujinya digunakan ANOVA (Analysis of variance), dengan statistik ujinya  $F$ . Dari tabel akan diperoleh  $F$  hitung dengan rumus:

$F \text{ hitung} = \text{RJK (K)} / \text{RJK (E)}$ , sebagai pembandingnya digunakan  $F$  tabel dari Tabel Distribusi  $F$  dengan  $dk$  ( $s-1$ ;  $n-s-2$ ) dan taraf kepercayaan  $\alpha$ . Kriterianya: tolak  $H_0$  jika  $F$  hitung dengan rumus di atas  $>$  dari  $F$  tabel.

Jika hasil pengujian dengan ANOVA bersifat signifikan (bermakna) selanjutnya dilakukan uji Rentang Newman Keuls berpasangan (Pengujian untuk Hipotesis 2). Analisis data dilakukan pada derajat kepercayaan 95% dengan nilai  $p \leq 0,05$ .

## Hasil dan Pembahasan

Pemeriksaan mikroskopis berdasarkan pengecatan Gram terhadap preparat yang dibuat dari semua bahan pemeriksaan (BP), memperlihatkan bahwa hampir seluruh preparat terdapat bakteri Gram positif, bentuk kokus, diameter  $\pm 1 \mu\text{m}$ , dengan formasi tersusun seperti rantai, sehingga bakteri ini diduga sebagai *streptococcus*. Pada bilasan dari beberapa alat tidak tampak hadirnya bakteri, namun dari alat lainnya selain *streptococcus*, juga ditemukan adanya kokus Gram positif, formasi bergerombol yang disebut *staphylococcus*. Beberapa preparat memperlihatkan adanya batang Gram positif, sebaliknya bakteri yang Gram negatif tidak tampak pada preparat yang diperiksa.

Indikator Biologis (IB) *Geobacillus stearothermophilus* dan *Bacillus atrophaeus*

Pengecatan Gram terhadap IB *Geobacillus stearothermophilus* yang tidak disterilkan/sebelum sterilisasi (kontrol

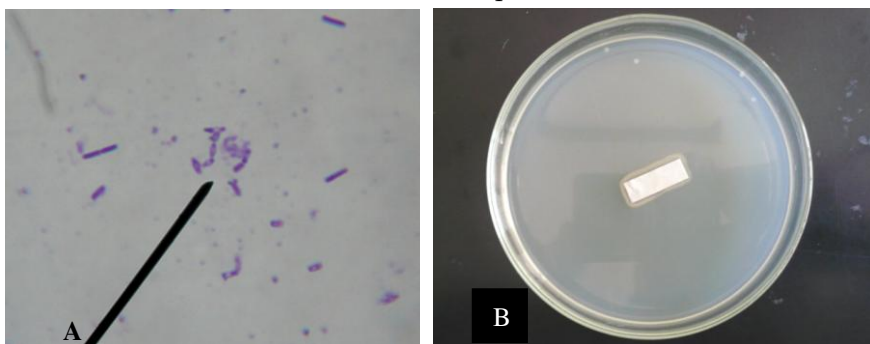


positif) memperlihatkan bakteri bentuk batang yang berwarna ungu, sehingga digolongkan Gram positif (Gambar 2). Dalam bentuk vegetatif ini terdapat daerah kosong tidak berwarna, berbentuk lonjong. Pengecatan spora menurut Klein menghasilkan adanya spora berwarna merah, terletak subterminal dalam bentuk vegetatifnya, dan banyak spora yang terlepas dari bentuk batang, menjadi spora bebas. Gambaran yang hampir sama juga diperoleh dari biakan *Bacillus atrophaeus*.

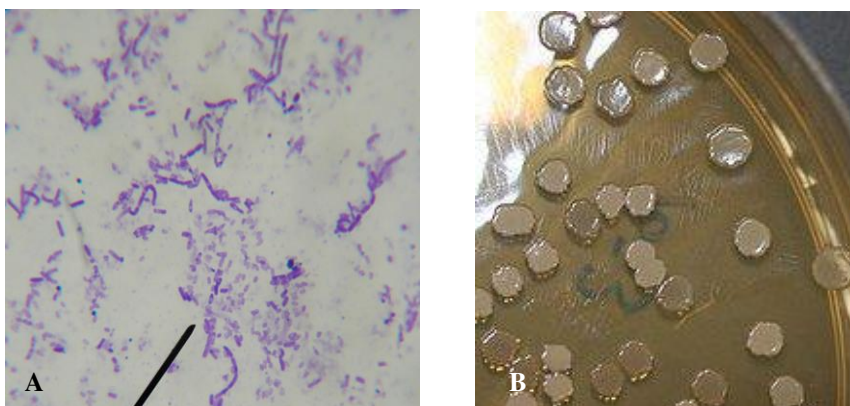
Dibandingkan dengan *Geobacillus stearothermophilus* pada pengecatan Gram, *Bacillus atrophaeus* tampak sebagai bakteri bentuk batang yang lebih tersusun seperti rantai, sehingga terdapat gambaran *streptobacillus*. Pada biakan LAB *Bacillus atrophaeus* memperlihatkan koloni yang pinggirannya tidak rata, relatif besar dengan diameter 2-5 mm (Gambar 3). Pada pengecatan Klein, spora *Bacillus atrophaeus* yang subterminal terletak lebih ke bagian ujung dibandingkan spora *Geobacillus stearothermophilus* yang relatif lebih ke tengah.

Biakan IB yang tidak disterilkan yaitu sebagai kontrol positif pada LAB memperlihatkan pertumbuhan koloni di sekitar strip spora (Gambar 2B). Selain itu, suspensi spora dalam bulyon dan ditanam pada LAB menghasilkan koloni yang tersebar di seluruh permukaan biakan.

Sesudah perlakuan autoklafisasi, IB *Geobacillus stearothermophilus* dalam kemasannya tidak berubah warna, berarti bahwa sterilisasi berhasil dengan baik.<sup>1</sup> Pengecatan Gram maupun Klein untuk IB *Geobacillus stearothermophilus* pasca autoklafisasi tidak memperlihatkan adanya bakteri ataupun spora lagi. Begitu pula pada pengecatan Gram yang dibuat dari strip spora *Bacillus atrophaeus* setelah sterilisasi dengan oven tidak ditemukan bentuk vegetatif bakteri. Berdasarkan pengecatan Klein tampak spora berwarna merah tanpa bentuk vegetatifnya, kecuali setelah sterilisasi dengan oven+*infrared* yang dilakukan 3 kali, 4 kali, dan 5 kali tidak ditemukan hadirnya bentuk vegetatif maupun spora bakteri pada semua preparat yang diperiksa.



**Gambar 2.** A. *Geobacillus stearothermophilus* dalam pengecatan Gram  
B. Biakan *Geobacillus stearothermophilus* pada LAB



**Gambar 3.** A. *Bacillus atrophaeus* dalam pengecatan Gram  
B. Biakan *Bacillus atrophaeus* pada LAB



**Gambar 4.** Biakan LAD yang Berasal dari Alat Bekas Pakai Odontektomi

Dibandingkan dengan *Geobacillus stearothermophilus* pada pengecatan Gram, *Bacillus atrophaeus* tampak sebagai bakteri bentuk batang yang lebih tersusun seperti rantai, sehingga terdapat gambaran *streptobacillus*. Pada biakan LAB *Bacillus atrophaeus* memperlihatkan koloni yang pinggirannya tidak rata, relatif besar dengan diameter 2-5 mm (Gambar 3). Pada pengecatan Klein, spora *Bacillus atrophaeus* yang subterminal terletak lebih ke bagian ujung dibandingkan

spora *Geobacillus stearothermophilus* yang relatif lebih ke tengah.

Biakan IB yang tidak disterilkan yaitu sebagai kontrol positif pada LAB memperlihatkan pertumbuhan koloni di sekitar strip spora (Gambar 2B). Selain itu, suspensi spora dalam bulyon dan ditanam pada LAB menghasilkan koloni yang tersebar di seluruh permukaan biakan.

Sesudah perlakuan autoklafisasi, IB *Geobacillus stearothermophilus* dalam kemasannya tidak berubah warna,

berarti bahwa sterilisasi berhasil dengan baik.<sup>1</sup> Pengecatan Gram maupun Klein untuk IB *Geobacillus stearothermophilus* pasca autoklafisasi tidak memperlihatkan adanya bakteri ataupun spora lagi. Begitu pula pada pengecatan Gram yang dibuat dari strip spora *Bacillus atrophaeus* setelah sterilisasi dengan oven tidak ditemukan bentuk vegetatif bakteri. Berdasarkan pengecatan Klein tampak spora berwarna merah tanpa bentuk vegetatifnya, kecuali setelah sterilisasi dengan oven+*infrared* yang dilakukan 3 kali, 4 kali, dan 5 kali tidak ditemukan hadirnya bentuk vegetatif maupun spora bakteri pada semua preparat yang diperiksa.

#### *Biakan LAD sebagai Hasil Penanaman Bahan Pemeriksaan*

Penanaman BP pada LAD menghasilkan biakan yang terdiri atas beberapa macam koloni berbeda. Pada umumnya biakan LAD didominasi oleh koloni yang bulat kecil (*pin-pointed*), pinggirannya rata, dengan ukuran diameter 0,3-0,5 mm, dan di sekelilingnya terdapat warna hijau pada biakan LAD sehingga dinyatakan dengan reaksi hemodigesti. Koloni lainnya juga berbentuk bulat dan mempunyai ukuran diameter yang relatif lebih besar (0,8-1 mm), tanpa memberikan reaksi terhadap LAD, yang berarti anhemolisis. Koloni yang berasal dari batang Gram positif berbentuk bulat tidak beraturan, diameter 1,2-2 mm; beberapa diantaranya

memperlihatkan reaksi hemolisis (Gambar 4).

#### *Penghitungan Jumlah Koloni Bakteri pada LAD yang Berasal dari Alat dan Bahan Bekas Pakai*

Penghitungan Jumlah Koloni (PJK) bakteri pada biakan LAD yang berasal dari alat dan bahan bekas pakai odontektomi bervariasi antara 2-235 dengan rata-rata 5,9-195,6 dan SD 2,2-37,6 (Tabel 1).

Berdasarkan PJK (Tabel 1) terlihat bahwa rata-rata jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada LAD yang paling kecil berasal dari tang yaitu 5,9 dengan rentang 2-10, sedangkan jumlah terbanyak berasal dari kaca mulut dengan rata-rata 195,6 dan rentang 98-235. Berdasarkan hasil ini diasumsikan jumlah bakteri kontaminan selama odontektomi dipilih dari PJK yang terbanyak yaitu berasal dari kaca mulut (98-235) dengan rata-rata 195,6. Nilai PJK ini dijadikan jumlah awal spora dalam pemantauan hasil sterilisasi pada penelitian yang dilakukan atau jumlah awal spora indikator IB, yaitu PJK<sub>1</sub>.

#### *Proses Sterilisasi dengan Pemanasan*

Pada waktu proses autoklafisasi akan dimulai termometer menunjukkan angka 27°C. Setelah pemanasan berlangsung 15 menit, temperatur autoklaf mencapai 121°C dan tetap stabil selama 15-20 menit. Temperatur menurun pada menit ke-40, sedangkan proses pengeringan (*drying*) diawali pada menit ke-50.

**Tabel 1.** Penghitungan Jumlah Koloni Bakteri pada Biakan LAD yang Berasal dari Alat dan Bahan Bekas Pakai Odontektomi Molar Rahang Bawah (n = 17)

Alat dan bahan bekas pakai	Ukuran statistik (jumlah koloni bakteri)			
	Rata-rata	SD	Median	Rentang
1. Tang cabut	5,9	2,2	6	2-10
2. Bein	8,7	3,3	9	4-15
3. Scalpel	8,6	2,2	8	6-14
4. <i>Syringe</i>	9,2	4,0	8	4-19
5. Sonde	9,2	2,9	8	6-15
6. Jarum	10,2	3,0	10	6-15
7. Pinset	21,4	3,8	21	15-28
8. Kuret	20,4	4,3	20	12-28
9. Kaca mulut	195,6	37,6	210	98-235
10. Benang	90,7	22,8	91	53-127

Pada pemanasan dengan oven+ozon dan oven+infrared, sejak menekan tombol "on" sterilisasi pertama kali memerlukan waktu 15 menit, lalu tombol "on" menjadi "off". Sesudah itu tombol "on" tidak dapat ditekan sampai menunggu 5 menit, barulah sterilisasi ke-2 dimulai, namun hanya berlangsung 5 menit, dan tombol "on" berubah jadi "off" kembali. Selanjutnya istirahat 5 menit lagi, supaya sterilisasi ke-3 dapat dilakukan dan juga berlangsung selama 5 menit.

Proses ini berulang demikian sampai sterilisasi ke-5.

*Jumlah Koloni Geobacillus stearothermophilus Sebelum dan Sesudah Autoklafisasi*

Sesudah autoklafisasi pada biakan LAB tidak tampak pertumbuhan koloni *Geobacillus stearothermophilus* (Tabel 2), walaupun di kontrol positif *Geobacillus*

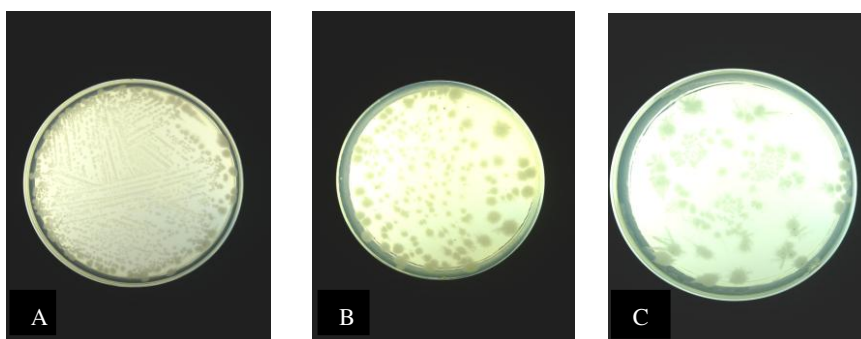
*stearothermophilus* tumbuh menjadi koloni kasar, bentuknya tidak beraturan, dengan diameter 1-3 mm. Pada kontrol negatif juga tidak terlihat pertumbuhan bakteri.

*Penghitungan Jumlah Koloni Bacillus atrophaeus Sebelum dan Sesudah Sterilisasi dengan Oven+ozon*

Sebelum sterilisasi dengan oven+ozon rentang koloni *Bacillus atrophaeus* berjumlah 237-389 (Tabel 3). Sesudah sterilisasi 1 kali PJK turun menjadi 220-361 dan berkurang akibat sterilisasi 2 kali (201-333). Setelah sterilisasi 3 kali makin kecil lagi (187-312), begitu pula sesudah sterilisasi 4 kali (170-295), dan paling kecil selesai sterilisasi 5 kali (152-272). Begitu pula sesudah sterilisasi 1 kali, koloni yang tumbuh relatif lebih rapat dan tampak diameternya kecil, sedangkan setelah sterilisasi ke-2 dan 3 gambaran koloninya relatif lebih besar (Gambar 5).

**Tabel 2.** Jumlah Koloni *G. stearothermophilus* Sebelum dan Sesudah Autoklafisasi

No Sampel	Sterilisasi	
	Sebelum	Sesudah
1	294	0
2	315	0
3	362	0
4	256	0
5	312	0
6	265	0
7	328	0
8	298	0
9	312	0
10	267	0
11	353	0
12	231	0
13	284	0
14	311	0
15	241	0
16	291	0
17	269	0
Rerata	293.47	0.00
Std	36.380	0.000



**Gambar 5.** Biakan LAB *Bacillus atrophaeus* Setelah Sterilisasi dengan Oven+ozon  
A. sterilisasi 1 kali, B. sterilisasi 2 kali, C. sterilisasi 3 kali

**Tabel 3.** Penghitungan Jumlah Koloni *Bacillus atrophaeus* Sebelum/Sesudah Sterilisasi dengan Oven+ozon (n = 17)

Jumlah koloni <i>Bacillus atrophaeus</i>	Ukuran statistik			
	Rata-rata	SD	Median	Rentang
Sebelum sterilisasi	312,6	44,0	301	237-389
Sesudah sterilisasi 1 kali	292,2	41,6	283	220-361
Sesudah sterilisasi 2 kali	269,2	42,4	261	201-333
Sesudah sterilisasi 3 kali	248,4	41,5	240	187-312
Sesudah sterilisasi 4 kali	229,6	41,2	223	170-295
Sesudah sterilisasi 5 kali	206,5	37,0	203	152-272

Keterangan : ANOVA *Repeated Measures* :  $F = 15,54$ ;  $p < 0,001$

Perbandingan antara pengukuran berdasarkan uji t berpasangan  $p < 0,001$

*Penghitungan Jumlah Koloni Bacillus atrophaeus Sebelum/Sesudah Sterilisasi dengan Oven dan Infrared*

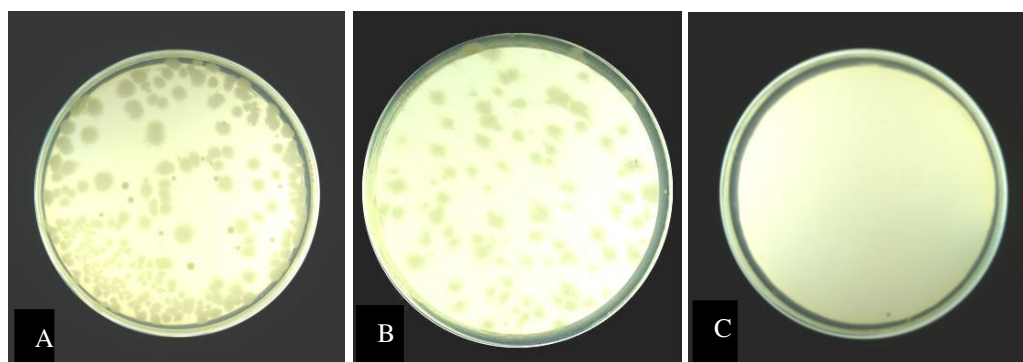
Hasil seperti ini tampak pada biakan LAB yang mula-mula (sterilisasi 1 kali) padat, kemudian berkurang setelah sterilisasi 2 kali, dan akhirnya sesudah sterilisasi 3 kali biakan LAB tidak ditumbuhi koloni *Bacillus atrophaeus* lagi (Gambar 6 dan 7).

Gambaran grafik PJK IB pada biakan LAB akibat pemanasan dengan oven+infrared memperlihatkan garis yang menurun relatif lebih tajam dibandingkan penurunan yang terjadi

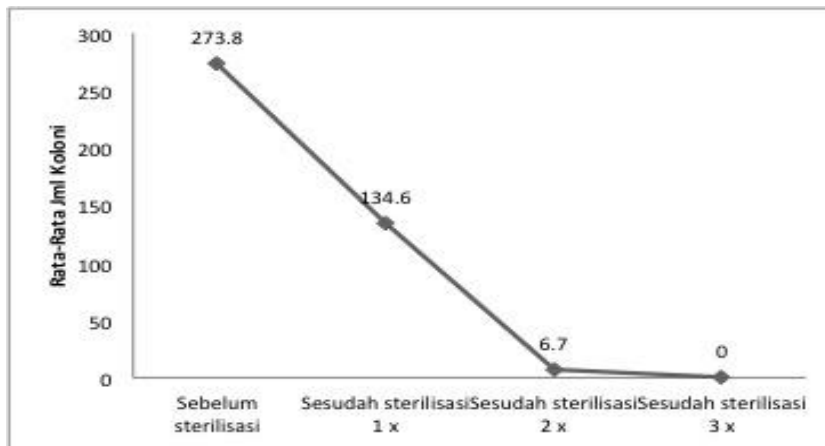
pada pemanasan oven+ozon dan setelah sterilisasi 2 kali tampak grafik lebih mendatar (Gambar 7).

*Perbandingan Penurunan Jumlah Koloni Bacillus atrophaeus antara Sterilisasi Oven+ozon dan Sterilisasi Oven+infrared*

Koloni *Bacillus atrophaeus* yang tumbuh pada biakan LAB sesudah sterilisasi dengan oven dan ozon berjumlah lebih kecil dibandingkan sebelum sterilisasi. Begitu pula PJK setelah sterilisasi 2 kali, 3 kali, 4 kali, 5 kali berjumlah lebih kecil dibandingkan perlakuan sterilisasi sebelumnya (Tabel

**Gambar 6.** Koloni *Bacillus atrophaeus* pada LAB Setelah Sterilisasi dengan Oven+infrared.

A. sterilisasi 1 kali, B. sterilisasi 2 kali, C. sterilisasi 3 kali

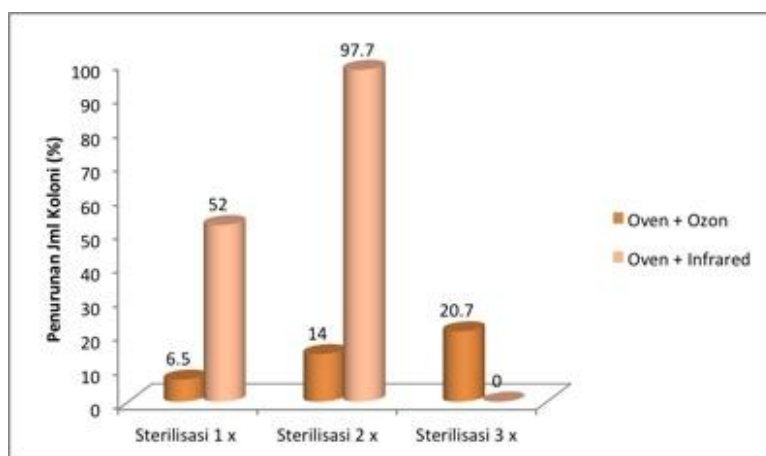


**Gambar 7.** Penurunan Jumlah Koloni IB pada Biakan LAB akibat Pemanasan dengan Oven+*infrared*

3). Walaupun perbedaannya relatif tidak banyak, namun jelas bahwa setelah sterilisasi satu kali pada oven+ozon tampak penurunan PJK 6,5%; lebih besar sesudah sterilisasi 2 kali (14%), dan nilai ini makin besar setelah sterilisasi 3 kali (20,7%), sebaliknya penurunan PJK yang dihasilkan akibat sterilisasi dengan oven+*infrared* 1 kali, diperoleh nilai yang

lebih besar (52%), dan nilai ini mencapai puncaknya setelah sterilisasi oven+*infrared* 2 kali (97,7%), karena setelah sterilisasi 3 kali tidak ditemukan adanya spora yang tumbuh pada biakan LAB.

Perbandingan penurunan jumlah koloni IB akibat sterilisasi dengan oven+ozon dan oven+*infrared* digambarkan dalam Gambar 8.



**Gambar 8.** Perbandingan Persentase Penurunan Jumlah Koloni *Bacillus Atrophaeus* pada Biakan LAB Sesudah Sterilisasi dengan Oven+ozon dan Oven+*infrared*

Pengecatan Gram yang dibuat langsung dari BP memperlihatkan hadirnya *streptococcus*. Hasil ini sangat ditunjang oleh adanya koloni pada biakan LAD yang di sekeliling koloninya terbentuk daerah hemodigesti. Biakan *Streptococcus*  $\alpha$  menghasilkan reaksi hemodigesti pada LAD karena bakteri ini dapat mengubah hemoglobin (Hb) yang berada dalam darah menjadi met-hemoglobin, sehingga menghasilkan daerah berwarna kehijauan pada biakan padat yang mengandung darah. Bakteri ini termasuk *streptococcus* grup *viridians*, dominan dalam rongga mulut. Jumlah *streptococcus* relatif lebih banyak dibandingkan *Staphylococcus* atau batang Gram positif. Ke dalam *Streptococcus* grup *viridians* termasuk *S. salivarius*, *S. sanguis*, *S. mitis* dan *S. mutans*.<sup>7</sup>

*Staphylococcus* dan batang Gram positif dapat ditemukan dalam rongga mulut, namun jumlahnya tidak sebanyak *streptococcus*, sehingga dapat absen pada beberapa preparat. Walaupun mudah tumbuh pada biakan LAD, namun jumlahnya hanya sedikit, sehingga bakteri ini tidak tampak pada semua BP yang diperiksa. *Staphylococcus* yang dapat hadir dalam rongga mulut termasuk *Staphylococcus salivarius*.<sup>7,8</sup>

Bakteri yang bersifat Gram negatif tidak tampak pada pengecatan Gram, karena bakteri ini berjumlah sedikit, sehingga tidak tampak dalam preparat yang diperiksa. Demikian pula pada biakan tidak ditemukan hadirnya bakteri Gram negatif, yang mungkin

hidup secara anaerob, misalnya *Prevotella intermedius*, *Porphyromonas gingivalis* atau *Fusobacterium fusiformis* sehingga sukar atau malahan tidak tumbuh pada pengeraman secara aerob seperti yang dilakukan dalam penelitian ini.<sup>9</sup>

Adanya bakteri pada preparat langsung maupun pada biakan LAD, membuktikan bahwa bilasan alat dan bahan bekas pakai pasien terkontaminasi oleh bakteri yang berasal dari rongga mulut pasien selama tindakan odontektomi, karena sebelumnya semua alat sudah disterilkan, dan tangan operator pada waktu operasi berlangsung telah dilindungi dengan sarung tangan yang steril pula. Inilah sebabnya alat bekas pakai tindakan odontektomi mutlak harus disterilkan dahulu sebelum digunakan pada pasien berikutnya. Jika tidak dilakukan sterilisasi, maka alat tersebut dapat menjadi perantara berpindahnya penyakit kepada pasien lainnya, apalagi alat-alat ini termasuk alat kritis yang akan berkontak langsung dengan jaringan operasi sehingga infeksi silang dan infeksi nosokomial mudah terjangkit akibat tindakan odontektomi.<sup>1</sup>

Penanaman IB yang tidak disterilkan yaitu kontrol positif pada biakan LAB memperlihatkan tumbuhnya bentuk vegetatif, baik untuk *Geobacillus stearothermophilus* maupun *Bacillus atrophaeus*. Hal ini menyatakan bahwa IB yang digunakan mengandung spora yang mampu melakukan germinasi untuk kembali ke bentuk vegetatifnya. Jadi kedua IB tersebut layak dipakai sebagai indikator biologis



untuk pemantauan hasil sterilisasinya. Sebaliknya kontrol negatif yaitu LAB yang tidak ditanami IB setelah inkubasi tidak tumbuh koloni, artinya LAB yang dipakai adalah steril dan tidak mengandung bakteri lainnya. Dengan hasil yang diperoleh ini dinyatakan juga bahwa LAB tersebut memenuhi persyaratan sebagai medium yang dapat digunakan dalam penelitian ini, karena bakterinya dapat tumbuh dengan baik pada medium LAB.

Setelah proses autoklafisasi, pada biakan LAB tidak ditemukan lagi pertumbuhan koloni *Geobacillus stearothermophilus*. Keadaan ini membuktikan bahwa proses autoklafisasi yang dilakukan dengan temperatur 121°C selama 15 menit menghasilkan keadaan yang steril. Bila spora saja sudah mati, berarti semua bakteri yang mempunyai daya tahan relatif lebih rendah daripada sporanya akan mati pula. Sebaliknya, setelah proses pemanasan dengan oven temperatur 125°C selama 15 menit, baik oven+ozon, maupun oven+*infrared* belum dapat dikatakan steril, karena pada biakan LAB masih terdapat pertumbuhan koloni *Bacillus atrophaeus*, walaupun pada pengecatan Gram dan Klein tidak tampak adanya bentuk vegetatifnya. Keadaan itu menyatakan pula bahwa pemanasan dengan oven+ozon dan oven+*infrared* dengan temperatur 125°C selama 15 menit hanya membunuh bakteri dalam bentuk vegetatif saja, dan tidak mampu menghancurkan sporanya. Spora tersebut akan melaksanakan proses germinasi bila ditanam pada medium

baru dan diinkubasi dengan suasana menguntungkan. Hasil ini juga membuktikan bahwa spora *Bacillus atrophaeus* dapat digunakan sebagai pemantau keberhasilan proses sterilisasi dengan oven yang digunakan.

Pada pengecatan Klein umumnya suspensi bakteri yang berspora dicampur dengan Karbol fukhsin sama banyak, lalu dipanaskan di atas penangas air selama 15-20 menit. Dalam penelitian ini digunakan suspensi *Bacillus atrophaeus* yang berspora, kemudian diserapkan pada kertas saring yang telah disterilkan supaya tidak mengandung bakteri lainnya. Proses sterilisasi melalui oven dengan suhu 125°C selama 15 menit akan mematikan bakteri, tetapi belum mampu mematikan spora. Dinding spora yang relatif lebih tebal dan mengandung kalsium dipikolinat dalam jumlah yang besar menghalangi proses kematian sporanya.<sup>6</sup> Itulah sebabnya pada pengecatan Klein yang dilakukan segera setelah proses sterilisasi terhadap strip spora yang dibuat, maka bakterinya sudah hancur/mati, sehingga yang tampak hanyalah spora bebas. Walaupun demikian spora tersebut masih mampu tumbuh dan membentuk koloni pada biakan LAB setelah diinkubasi.

Proses kematian bakteri dan sporanya dalam autoklafisasi berlangsung secara denaturasi dan koagulasi protein dalam sel mikroba.<sup>4</sup> Uap air yang dihasilkan selama proses sterilisasi menyebabkan lingkungan yang lembab dan memaksa semua spora melaksanakan proses germinasi. Dalam

keadaan panas dan lembab, protein akan didenaturasikan dengan cepat dan dilanjutkan proses koagulasi sehingga mikroba tersebut mati.<sup>6</sup> Berdasarkan hasil ini terbukti bahwa autoklafisasi yang dilakukan pada temperatur 121°C selama 15 menit merupakan sterilisasi yang ideal dan memenuhi persyaratan penggunaan alat-alat kritis yang steril, dan diperlukan untuk bekerja secara aseptis.

Begitu pula sesudah sterilisasi dengan oven+ozon 2 kali (20-25 menit), 3 kali (30-35 menit), 4 kali (40-45 menit) dan 5 kali (50-55 menit), meskipun tidak didapatkan bentuk vegetatif yang hidup, setelah inkubasi dengan suhu 37°C selama 18-24 jam, spora *Bacillus atrophaeus* masih mampu membentuk koloni pada biakan LAB. Jadi sterilisasi dengan oven+ozon hanya mematikan bentuk vegetatif saja, menghasilkan proses disinfeksi, walaupun sudah dilakukan pengulangan 1 kali, 2 kali, 3 kali, 4 kali bahkan 5 kali, namun belum mampu membunuh semua sporanya, atau dengan kata lain hanya bersifat bakterisid dan bukan sporisid.<sup>6</sup>

Sebaliknya sterilisasi dengan oven+infrared dapat menurunkan jumlah spora *Bacillus atrophaeus* yang relatif lebih banyak dibandingkan dengan oven+ozon. Infrared akan menghasilkan panas sehingga temperatur meningkat menjadi lebih tinggi. Pemanasan ini akan menyebabkan inisiasi spora, untuk melaksanakan proses germinasi menjadi bentuk vegetatifnya, sehingga pada pemanasan berikutnya bentuk vegetatif akibat proses germinasi spora tersebut akan mati.<sup>14</sup> Itulah sebabnya pada sterilisasi oven+infrared 2 kali (menit ke

20-25) jumlah spora yang tumbuh pada biakan LAB relatif lebih kecil dibandingkan sterilisasi 1 kali (15 menit). Demikian pula pada pemanasan 3 kali sterilisasi panas yang terbentuk bertambah dan jumlah spora akan berkurang sampai 0 karena semakin banyak spora yang mati. Hal ini dapat menjelaskan mengapa setelah proses pemanasan diulang 3 kali (menit ke 30-35 menit) maka semua spora akan mati, walaupun sangat disayangkan temperatur yang dicapai tidak dapat dicatat. Setelah sterilisasi dilakukan 4 kali (menit ke 40-45), dan 5 kali (menit ke 50-55), tampak bahwa semua spora tidak ada dalam pemeriksaan mikroskopis dan tidak tumbuh pada biakan LAB, yang berarti bahwa semua spora sudah mati. Dengan demikian proses pemanasan dengan oven+infrared sesudah 3 kali dapat dikatakan sterilisasi. Berdasarkan hasil ini dapat dibuktikan bahwa oven yang dilengkapi infrared dapat digunakan untuk sterilisasi dengan mengulang proses pemanasannya sampai minimum 3 kali (menit ke 30-35). Mekanisme panas menghancurkan spora bakteri yaitu melalui inaktivasi protein, kalsium, asam dipikolinat dan DNA dengan menyerap air dalam protoplasma sel. Karena itu terjadi kekeringan spora dan proses metabolisme terhenti yang berakibat kematian sel.<sup>9</sup> Selain itu panas juga menyebabkan denaturasi protein yaitu melemahnya ikatan kimia enzim yang berfungsi memelihara bentuk alami enzim. Kerusakan ikatan kimia menyebabkan distorsi bentuk enzim sehingga enzim tidak berfungsi dan

menghentikan reaksi metabolisme yang mengakibatkan kematian sel.<sup>9</sup>

Pada autoklafisasi, pemantauan temperatur mudah dilakukan berdasarkan penunjukkan angka pada termometer, sebaliknya oven yang digunakan dalam penelitian ini tidak dilengkapi termometer sehingga sulit menentukan temperatur yang dicapai. Untuk hasil pemantauan yang baik, sangat disarankan agar pabrik dapat melengkapi oven tersebut dengan termometer yang mudah dibaca selama proses sterilisasi berlangsung.

Pengulangan proses sterilisasi dengan oven yang ke-2, dan ke-3 kali pada oven+*infrared*, maupun pada oven+ozon sampai 5 kali dapat meningkatkan temperatur dan waktu sterilisasi walaupun setelah 5 menit tombol "on" berubah menjadi "off". Dapat dijelaskan bahwa pengulangan proses sterilisasi berarti pemanasan bertambah sehingga temperaturnya meningkat dan waktunyapun bertambah. Pada pemanasan 1 kali (15 menit) umumnya bakteri sudah mati dan terjadi proses inisiasi pada spora bakteri. Itulah sebabnya pada pemanasan ke 2 (menit ke 20-25), maka akan terjadi kematian spora yang lebih banyak, sehingga seluruh spora mati setelah pemanasan ke 3 (menit ke 30-35).

Hal yang berbeda terjadi pada ozon, walaupun proses sterilisasi diulang sampai 5 kali (menit ke 50-55), masih ada spora yang hidup, namun semua bentuk vegetatif bakteri sudah mati. Proses sterilisasi ini baik dilakukan untuk makanan yang dapat mematikan semua bentuk vegetatifnya.<sup>10,11,12</sup> Bila

sebagai kontaminan hanya terdiri dari bakteri yang berjumlah sedikit, dapat saja tercapai keadaan steril. Itulah sebabnya sebelum disterilkan semua alat harus dicuci sampai bersih sehingga jumlah bakteri kontaminan berjumlah minimum.

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat pula disarankan penggunaan spora bakteri sebagai indikator biologis dalam proses sterilisasi alat dan bahan odontektomi, untuk memenuhi persyaratan dalam *standard precaution*.<sup>13,14</sup> Bila dalam proses sterilisasi dengan oven+*infrared* tercapai keadaan steril maka oven tersebut dapat direkomendasikan untuk digunakan dalam proses sterilisasi dalam tindakan operasi yang lainnya.

## Simpulan

Sterilisasi dengan oven yang dilengkapi ozon dan *infrared* yang dilakukan pada temperatur 125°C selama 15 menit belum dapat membunuh seluruh spora *Bacillus atrophaeus* sebagai IB. Spora tersebut baru hancur semuanya setelah sterilisasi dengan oven+*infrared* sebanyak 3 kali (menit ke 30-35 menit), atau jumlah spora akan berkurang bila dipanaskan dengan oven+ozon. Pengurangan jumlah spora semakin bertambah besar sebanding dengan peningkatan jumlah pengulangan perlakuan.

Hasil jaminan steril berdasarkan PJK indikator biologis setelah sterilisasi dengan oven+*infrared*, oven+ozon berbeda bermakna bila dibandingkan dengan autoklaf yang mampu

membunuh spora *Geobacillus stearothermophilus* hanya dalam 1 kali perlakuan autoklafisasi. Pada pemanasan dengan oven+*infrared*, proses sterilisasi tercapai setelah 3 kali perlakuan sterilisasi, sebaliknya pemanasan dengan oven+ozon hanya terjadi proses desinfeksi walaupun telah dilakukan pengulangan pemanasan sampai 5 kali.

Berdasarkan kematian spora *Bacillus atrophaeus* setelah sterilisasi 3 kali dengan oven+*infrared*, maka *Bacillus atrophaeus* dapat digunakan sebagai uji sterilitas pada pemanasan dengan oven+*infrared* walaupun pada oven+ozon hanya terjadi proses bakterisid.

### Saran

Oven yang disertai ozon+*infrared* hendaknya dilengkapi dengan termometer sehingga temperaturnya dapat dipantau dengan lebih baik.

Proses sterilisasi dengan oven+*infrared* sebaiknya dilakukan minimum 3 kali supaya semua kontaminan pada alat termasuk bakteri dan sporanya dapat hancur/mati, sedangkan proses pemanasan sampai 5 kali dalam oven+ozon baik untuk desinfeksi, bukan sterilisasi. Sebelum proses sterilisasi dengan oven, seyogyanya alat bekas pakai dicuci/dibersihkan dengan cermat, sehingga jumlah bakteri kontaminan termasuk sporanya berjumlah minimum.

Pemantauan keberhasilan sterilisasi layak diterapkan dengan menggunakan spora bakteri sebagai indikator biologis,

sehingga tindakan odontektomi dapat dilaksanakan berdasarkan *standard precaution* dengan baik.<sup>15,16</sup>

### Daftar Pustaka

1. Miller CH, Palenik CJ. Infection control & management of hazardous materials for the dental team. 3<sup>rd</sup> ed. St. Louis: Elsevier Mosby; 2005.
2. Samaranayake LP. Principles of infection control. In: Taylor A. Essential microbiology for dentistry. 2<sup>nd</sup> ed. St. Louis: Churchill Livingstone, 2002; p. 255-57.
3. Corona Booklet for ZTP80A type double-door Dryer Sterilizer. [cited 2010 February 15]. Available from: <http://entryad.com/sterilisator-corona-ztp800a-double-dooralatterapi.blogspot.com>.
4. Crawford JJ. Sterilization, disinfection, and asepsis in dentistry. In: Mc. Ghee JR, Michalek AM, Cassell GH. Dental microbiology. Philadelphia: Harper & Row Publ. Inc., 1982; p. 189-92.
5. Dusseau JY. Gaseous sterilization. In: Russell AD. Principles and practice of disinfection preservation and sterilization. 4<sup>th</sup> ed. Massachusetts: Blackwell Publishing Ltd., 2004; p. 361-63.
6. Kolstad R, White RR. Disinfection and sterilization. In: Willett NP, White RR, Rosen S. Essential dental microbiology. Connecticut: Appleton & Lange, 1991; p. 55-83.
7. Lambert PA. Resistance of bacterial spores to chemical agents. In Russell AD. Principles and practice of disinfection preservation and sterilization. 4<sup>th</sup> ed. Massachusetts: Blackwell Publishing Inc., 2004; p. 184-90.

8. Scannapieco FA. Oral Microbiology and immunology. American Society for Microbiology Press; 2006.
9. Molinari JA. Sterilization and disinfection. In: Schuster GS. Oral microbiology and infectious disease. 3<sup>rd</sup> ed. Philadelphia: B.C. Decker Inc., 1990; p. 153-74.
10. Talaro K, Talaro A. Foundations in microbiology. 2<sup>nd</sup> ed. Dubuque, IA. Brown Publishers, 1996; p. 328-31.
11. Miller CH, Palenik CJ. Sterilization-monitoring. In: Sprehe C. Infection control in dental settings. CDC, 2003, p. 26-9.
12. Jackson RJ, Crawford JJ. Principles of sterilization and disinfection. In: McGhee JR, Michalek AM, Cassell GH. Dental microbiology. Philadelphia: Harper & Row Publ. Inc., 1982; p. 143-6.
13. Rutala WA, Weber DJ. Guideline for disinfection and sterilization. In: health care facilities. Center for Disease Control and Prevention (CDC) Guidelines; 2008.
14. Favero MS., Bond WW. Sterilization, disinfection and antisepsis in the hospital. In: Hausler WJ, Hermann KL, Isenberg ID, Shadomy HJ. Manual of clinical microbiology. 5<sup>th</sup> ed. Washington DC: American Society for Microbiology, 1991; p. 561-64.
15. Prescott LM, Harley JP, Klein DA. Microbiology. 5<sup>th</sup> ed. Singapore: McGraw-Hill; 2003.
16. Maalouf K. Infection control and proper sterilization. Guidelines for instrument processing. Group Practice Journal Volume 56; 2007.